LABORATORIO DI TERAPIA SPERIMENTALE
Dott. Prof. A. BRUSCHETTINI
GENOVA

IMMUNITÀ E TERAPIA NELLA TUBERCOLOSI

Dott. Prof. A. BRUSCHETTINI

(Comunicazione letta al VII Congresso Internazionale contro la Tubercolosi - Roma, Aprile 1912)

IMMUNITÀ E TERAPIA NELLA TUBERCOLOSI

Dott. Prof. A. BRUSCHETTINI

(Comunicazione letta al VII Congresso Internazionale contro la Tubercolosi - Roma, Aprile 1912)

IMMUNITA' E TERAPIA NELLA TUBERCOLOSI

Dott. Prof. A. BRUSCHETTINI [1] - Genova

Alla *Conferenza Internazionale contro la Tubercolosi,* tenuta in Bruxelles nell'Ottobre 1910, ho avuto l'onore di presentare i primi risultati di un nuovo metodo di cura specifica da me ideato per mezzo di un Siero-vaccino.

Oggi, dopo circa un anno e mezzo da quella prima comunicazione e dopo più di due anni dai primi esperimenti sull'uomo, comunico gli ultimi risultati ottenuti e le modificazioni apportate al Siero-vaccino, e mi diffondo più largamente sui principi direttivi delle mie esperienze. —

I. È ormai fuori dubbio, che tutti i tentativi fatti per ottenere un siero veramente efficace nella cura della tubercolosi hanno fallito: la speranza di curare il processo tubercolare mediante l'immunizzazione passiva è stata delusa; i risultati, che sembrava si fossero ottenuti, non possono coscienziosamente essere riferiti all'azione dei vari sieri conosciuti: sono i cambiamenti nel regime di vita, sono le cure igienico-dietetiche che si consigliano sempre unitamente alla cura specifica, sono infine energie latenti dell'organismo che si manifestano e si ridestano, quelle che dànno le parvenze di miglioramenti da molti attribuiti ai sieri. Non voglio dire con ciò che tutti i sieri specifici conosciuti sieno completamente privi di azione verso il processo tubercolare: ammetto anch'io che molti fenomeni secondari accompagnanti l'infezione tubercolare possano essere favorevolmente influenzati dall'uso di tali sieri, ma ciònonostante questi non possono assolutamente influire sull'andamento fatalmente progressivo del processo tubercolare. Ne abbiamo anche una prova in ciò, che nessuno ha potuno finora dare la dimostrazione di un'azione efficace dei vari sieri sulla tubercolosi sperimentale degli animali.

E, chi ben consideri la natura anatomico-istologica dell'infezione tubercolare e d'altra parte abbia presente il modo di preparazione dei vari sieri antitubercolari, dovrà convenire nel mio asserto.

Il bacillo tubercolare in seno ai tessuti, eccetto che nei primissimi stadi del periodo d'invasione, è protetto validamente da uno strato di sostanza

(1) Comunicazione letta al « VII Congresso Internazionale contro la Tubercolosi » a Roma, Aprile 1912.

grassa chitinosa, che impedisce a qualunque sostanza liquida di raggiungerlo e di attaccarlo. *Nessun siero*, pur ammettendo che possegga *in vitro* mirabolanti proprietà batteriolitiche, può arrivare a uccidere e sciogliere il bacillo tubercolare in seno ai tessuti.

Nè molto possiamo sperare dai *sieri antitossici*, sia perchè i metodi di preparazione non sono affatto appropriati, sia perchè il quadro delle intossicazioni tubercolari non è dato solamente dalle tossine elaborate dal bacillo di Koch. E mi spiego:

Nella intossicazione tubercolare noi dobbiamo tener presenti tre fattori distinti: *l'elemento tossico*, costituito dai prodotti del ricambio materiale del bacillo tubercolare, nonchè dai prodotti messi in libertà dopo la morte di detto bacillo; *l'elemento tossico*, importantissimo, e del quale veramente si tiene poco o nessun conto, dato dalla morte e dal disfacimento delle cellule del tessuto in preda al processo tubercolare; *l'elemento tossico* infine, determinato dalle associazioni microbiche.

Che cosa possono fare i sieri antitossici di fronte all'azione imponente dei tre elementi suddetti? Sieri tolti da animali, cui furono iniettate colture in brodo filtrato, tubercoline, endotossine, tutti prodotti infine che mai hanno potuto determinare in questi animali la produzione di vere antitossine? E noi sappiamo ormai come anche gli animali ipervaccinati non sieno capaci di distruggere nel loro proprio organismo i germi che noi iniettiamo, germi, i quali, benchè inerti, si mantengono per anni vivi e virulenti. Come ammettere dunque che i sieri di questi animali possano avere proprietà antitossiche, quando mai tali animali sono stati iniettati con le vere tossine tubercolari causa unica dell'imponente sindrome fenomenologica della tossiemia tubercolare? Come ammettere che possano avere proprietà litiche, quando non sono capaci di distruggere i germi che si trovano nell'organismo che li ha prodotti?

Ben' altra dev'essere la via per ottenere risultati efficaci e la immunità contro la tubercolosi, nè questa via può essere certo la sieroterapia; e mi associo pienamente alle conclusioni di Guinard e Rénon fatte all'Accademia di Medicina di Parigi nello scorso Ottobre: « che non si può, cioè, concludere che la sieroterapia sia la via migliore per condurre alla guarigione della tubercolosi ».

L'infezione tubercolare non deve essere considerata esclusivamente dal punto di vista di una infezione microbica, nel senso cioè che tutto il processo sia legato esclusivamente al bacillo di Koch: prescindendo dalle associazioni microbiche, noi dobbiamo tenere presente l'elemento cellulare, che nell'infezione tubercolare ha una parte importantissima, sia perchè costituisce una fonte di sostanze tossiche in seguito alla sua morte ed al suo disfacimento, sia perchè costituisce un elemento di difesa al bacillo tubercolare stesso che vi si annida e prolifica.

Ed è con soddisfazione che ho letto di questi giorni in una rivista sui vari sieri antitubercolari pubblicata nel Bulletin de l'Institut Pasteur dal Prof. Calmette, autorità da tutti riconosciuta nel campo della tubercolosi, che il detto sperimentatore accenna all' importanza dell'elemento cellulare nell' infezione tubercolare e alla necessità di combatterlo tanto energicamente quanto il bacillo di Koch.

È alla cellula tubercolare quindi che noi dobbiamo mirare, quanto è forse più che al bacillo di Koch: distruggere la cellula tubercolare, facilitarne l'eliminazione per mezzo degli emuntori naturali dell'organismo, costituirà una vittoria nella lotta contro il processo tubercolare, quanto l'ottenere la morte e l'eliminazione del bacillo specifico.

Duplice quindi il problema che mi ero proposto.

II. Accennerò brevemente a tentativi fatti per ottenere un mezzo di cultura adatto allo sviluppo del bacillo di Koch, più di quello che non sieno i nostri soliti brodi, agar e sieri glicerinati o no, patate, ecc. I risultati ottenuti modificando questi mezzi con vari artifizi sono stati quasi completamente negativi: si riuscirà ad avere uno sviluppo più rapido, un accrescimento più rigoglioso, si potrà mantenere più a lungo la virulenza di un dato ceppo, ma non si otterrà mai quello che era il nostro ideale, la formazione cioè di quelle sostanze tossiche che, iniettate negli animali, riproducano il quadro della intossicazione tubercolare.

Usciti vani questi tentativi, pensai ricercare nei tessuti invasi dal bacillo di Koch quelle sostanze che invano mi ero sforzato di ottenere *in vitro*; tralasciando tutti i tentativi fatti, *descrivo il metodo che seguo attualmente:*

Inietto o per mezzo della via endovenosa, o della endotracheale, bacilli di Koch nel polmone e determino in questo un afflusso di leucociti. *Dopo un periodo di tempo,* variabile a seconda della taglia dell'animale e della quantità e della virulenza dei bacilli iniettati, in generale quando il dimagramento è già pronunciatissimo, si uccide per dissanguamento l'animale, si raccolgono asetticamente i polmoni, si triturano finamente con polvere di quarzo, si emulsionano in acqua distillata, si mettono nell'agitatore per circa 12 ore, si filtra per doppio filtro di carta Chardin e si conserva sotto toluolo.

Questo liquido, iniettato in conigli sani, si mostra dotato di proprietà tossiche senza però dar luogo a fenomeni che rammentino l'intossicazione tubercolare; se però noi lo iniettiamo ad un animale che precedentemente abbia avuto un'iniezione di bacilli tubercolari, noi vediamo rapidamente manifestarsi un aggravamento nei sintomi dall'animale presentati, aggravamento non eguale a quello determinato dalle aggressine di Bail, con successiva rapida morte, ma bensì osserviamo l' insorgere di elevazioni termiche notevoli per ampiezza e per durata e un concomitante lento progressivo dimagrimento.

Tali fenomeni sono vieppiù accentuati se, in luogo di iniettare il semplice estratto di polmone tubercolare, noi lo iniettiamo unitamente ad una endotossina tubercolare preparata nel modo che dirò in appresso.

Non voglio affermare, con quanto ho riferito, di riprodurre negli animali il quadro completo dell'intossicazione tubercolare, molti elementi mancano, ma è impressionante il succedersi rapido dei fenomeni suddescritti (febbre, dimagrimento) subito dopo l' iniezione dell' estratto polmonare tubercolare semplice o unito all'endotossina.

Con nessun altro mezzo noi assistiamo a una evoluzione così rapida del processo tubercolare e, per ora almeno, a mio parere, *è con questa sostanza tossica* che possiamo sperare di vedere efficacemente reagire gli animali produttori di siero; e, al pari di quanto osserviamo verificarsi per i varii sieri citolitici, potremo sperare di ottenere un siero dotato di proprietà litiche verso la cellula tubercolare.

Nel corso di queste esperienze ho potuto notare, che quanto più esteso era il processo distruttivo del parenchina polmonare, tanto più elevato era il potere tossico dell'estratto. *E ho in corso* ricerche, delle quali mi spiace non poter ancora dare i risultati, fatte iniettando nel polmone di animali tubercolosi alcuni microrganismi piogeni, o i prodotti del loro metabolismo, che ho già veduto determinare rapidamente la distruzione del polmone.

III. In possesso adunque di questa sostanza tossica, ho proceduto alla immunizzazione dei vari animali, per studiare poi le proprietà del loro siero. Non che io credessi nell'efficacia del siero come mezzo curativo della tubercolosi: 15 anni di ricerche mi avevano su questo punto abbastanza disilluso, ma volevo ottenere un siero che fosse dotato di qualche proprietà antitossica e che neutralizzasse anche in piccola parte qualcuno dei fenomeni secondari dell'infezione tubercolare.

Il processo da me seguito per immunizzare grossi animali è il seguente:

In primo tempo quantità crescenti di *endotossina* così preparata: Colture tubercolari in patate, o in agar glicerinato, o in siero glicerinato, vengono emulsionate in cloroformio e mantenute (cambiando di quando in quando il cloroformio) alla temperatura di 40° per 24-36 ore; i bacilli si raccolgono sul filtro e vengono finamente emulsionati con acido fenico al 5 °/₀₀ alla temperatura di 56° per cinque o sei giorni, mentre durante la notte vengono lasciati nell'agitatore: dopo di che si filtra per carta Chardin.

Dopo questo primo tempo si iniettano piccole dosi di estratto polmonare aumentando gradatamente la dose: è questo il punto più delicato delle immunizzazioni, dovendosi evitare ogni reazione violenta, la quale, checchè si dica, è nociva alla produzione di un siero efficace.

Allorchè gli animali sopportano impunemente forti dosi di estratto e di

endotossina, si inizia *il terzo periodo* d' immunizzazione, iniettando colture, in agar o patata, emulsionate in soluzione fisiologica e tenute a 60° per due ore,

Ho rinunziato all' iniezione di bacilli vivi e virulenti e di bacilli tenuti in sacco di collodion nel peritoneo di animali immunizzati, perchè ulteriori esperienze mi avevano dimostrato non recare alcun aumento all'efficacia del siero; invece ho fatto seguire l'iniezione sotto cute dell'endotossina e dei bacilli a 60° da iniezioni endovenose (non però più di 1 al mese).

Il siero così ottenuto ha, come già accennai nella mia precedente comunicazione, un certo potere preventivo e curativo, non tale però da potere far concepire su di esso speranze per una razionale terapia tubercolare.

IV. Ed è a questo punto che io richiamo l'attenzione su quanto dissi più sopra, e che accennai sino dalla mia prima comunicazione del 1899, sull'*importanza* cioè *dell'elemento cellulare nell'infezione prodotta dal bacillo di Koch.*

Se coi sieri di animali anche ipervaccinati non possiamo influire efficacemente sulla lesione tubercolare, *cerchiamo immunizzare l'organismo attivamente*, sia rendendo refrattari i tessuti non ancora presi, sia facilitando la distruzione e conseguentemente l'eliminazione del tessuto malato.

È ovvio che ciò potremo ottenere solo mediante un vaccino, ed io, in seguito ad osservazioni ed esperienze fatte precedentemente, pensai raggiungere lo scopo mantenendo per lungo tempo il bacillo di Koch nell'organismo animale a contatto con leucociti viventi.

Ottenni facilmente l'afflusso di leucociti con i mezzi che tutti noi conosciamo, e, dopo otto giorni in media dacchè bacilli tubercolari e leucociti erano stati a contatto, io trituravo accuratamente in un mortaio questa poltiglia con polvere di quarzo sterilizzata, emulsionavo con acqua distillata con aggiunta di etere, e tenevo nell'agitatore per 3-4 giorni, dopo di che questa emulsione veniva tenuta alla temperatura di 56° per altri 3-4 giorni.

Il liquido così ottenuto, filtrato per Pukal, palesò spiccatissime proprietà vaccinanti, le quali si dimostrarono nella cavia anche dopo *18* mesi dalla vaccinazione.

Questo vaccino *è innocuo* anche a dosi piuttosto elevate: solo gli animali già tubercolizzati reagiscono anche a piccole dosi, senza che per altro il processo tubercolare venga aggravato, anzi, adoperando dosi molto piccole, questo ne è favorevolmente influenzato fino ad aversi talora l'arresto dei fenomeni, se la malattia non dati da lungo tempo.

V. La reazione presentata dagli animali tubercolosi all'iniezione del vaccino manca, se questu viene unito nella proporzione di 1-5 al siero già descritto.

È per tale ragione che per l'applicazione all'uomo io adottai una *mescolanza di vaccino e di siero,* la quale, oltre ad avermi dato ottimi risultati negli animali, ha ottenuto largo consenso sulla sua efficacia da quanti lo esperimentarono.

Sugli animali infatti il mio Siero-Vaccino ha queste proprietà: come *preventivo,* salva le cavie nella proporzione dell'82-86 %.; *dopo l' infezione* salva le cavie nella proporzione del 55-58 % se iniettato in ventesima giornata, e del 68-72 % se iniettato in sesta giornata. I controlli muoiono in media in 40 giorni.

Per l'uomo, cominciando dal Brompton Consumption Hospital di Londra, dove da più di due anni si usa il mio Siero-vaccino con risultati sempre concordi, tutti quelli che ebbero occasione di esperimentarlo osservarono sempre una benefica influenza sino dalle prime iniezioni anche in casi piuttosto gravi. Diminuzione e cessazione della febbre, scomparsa dei sudori notturni, diminuzione della tosse, dell'espettorato, ricomparsa dell'appetito, diminuzione e susseguente scomparsa dei bacilli nello sputo, senso generale di benessere accusato dallo stesso malato, sono fenomeni osservati pressochè costantemente da tutti i medici che fecero uso del Siero-vaccino. Il Sanatorio di Monaco Principato, il Sanatorio Umberto I di Livorno, l'Ambulatorio dell'Associazione Genovese contro la Tubercolosi ed altri Ospedali ed Istituti congeneri, Medici distinti di S. Remo, di Genova, Torino, Napoli, Bologna, Venezia, Rovigo, di Alessandria d' Egitto e di altre città hanno inviato e inviano relazioni favorevolissime sull'uso del Siero-vaccino. —

Ed ora, o Colleghi, io non vi dico di aspettarvi miracoli; io non vi dico che il mio Siero-vaccino possa arrestare il « fatale andare » in un tubercoloso al terzo stadio, con caverne e con fatti tossiemici imponenti; io non vi dico, come taluno forse può pretendere, che cinque o sei iniezioni bastino a modificare i sintomi dell' infezione tubercolare, nè che i bacilli scompaiano rapidamente dallo sputo, e che in poche settimane si avveri la « restitutio ad integrum » del parenchima polmonare: no, noi tutti sappiamo quanto lento sia il processo di riparazione del tessuto polmonare, noi tutti sappiamo quanto lungamente si conservino vivi i bacilli tubercolari nei tessuti, anche quando abbiano perduto il potere di nuocere all'individuo che li ospita; noi tutti sappiamo infine che in ogni processo d' immunizzazione non tutti gli organismi reagiscono in egual modo, sia per intensità che per rapidità; non possiamo quindi fissare i limiti certi entro i quali appariranno i primi fenomeni della immunità stabilitasi.

Io vi dico: il *Siero-vaccino* che vi propongo agisce direttamente sui vari fattori del processo tubercolare, agisce attivamente, direttamente sul germe specifico, sul tessuto malato: *lenta potrà essere la sua azione, ma certa e duratura.*